

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
Klinikum Steglitz, FU Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Ernst-Otto Riecken

Immunogenität von Hausstauballergen- extrakten verschiedener Hersteller

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Albrecht, Ruth
Kaufbeuren

1904

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
Klinikum Steglitz, FU Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Ernst-Otto Riecken

Immunogenität von Hausstauballergen- extrakten verschiedener Hersteller

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Albrecht, Ruth

Kaufbeuren

Referent: Prof. Dr. H. Michel

Korreferent: Prof. Dr. G. Stüttgen

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 18. September 1984

Druck: Zentrale Universitäts-Druckerei, Kelchstraße 31, 1000 Berlin 41

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung.....	3
2. Gegenstand der Arbeit.....	8
3. Material und Methoden.....	8
3.1 Probanden.....	8
3.2 Testlösungen.....	9
3.3 Pricktest.....	9
3.4 Auswertung der Testreaktionen.....	10
3.5 Statistische Überprüfung.....	11
4. Ergebnisse.....	12
4.1 Signifikanz der Unterschiede.....	15
4.2 Bestimmung der biologischen Aktivität in HEP-Einheiten.....	19
4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	21
5. Diskussion.....	22
6. Zusammenfassung und Schlußfolgerung.....	24

Literatur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Es ist seit langem bekannt, daß manche Menschen auf den Staub ihrer Umgebung mit allergischen Reaktionen des Respirationstraktes (Rhinitis, Asthma bronchiale) reagieren (15, 31). Trotz jahrzehntelanger Forschung kann die Frage nach den dafür verantwortlichen Allergenen noch nicht zufriedenstellend beantwortet werden. Ursache für die Schwierigkeit, das oder die Hausstauballergen(e) zu identifizieren und zu isolieren, ist die Heterogenität des Hausstaubs. Er besteht aus unterschiedlichen Substanzen wie menschlichen und tierischen Hautschuppen (11, 12, 13), Schimmelpilzen (16), Kapok (57), Federn (22) und Endotoxinen (39).

Die Hypothese, daß im Hausstaub spezifische Allergene enthalten sind, wurde erstmals von Kern (31) und Cooke (15) aufgestellt. Sie stützten sich dabei auf Beobachtungen, daß Hauttestungen mit einem Rohextrakt aus Hausstaub bei Hausstauballergikern allergische Hautreaktionen hervorrufen und daß sich mit dem Hausstaubextrakt selbst dann übereinstimmende Ergebnisse bei der Testung an Hausstauballergikern erzielen lassen, wenn der Hausstaub aus verschiedenen Erdteilen stammt.

Die Vermutung, daß Milben für die allergischen Symptome durch den Hausstaub verantwortlich seien, wurde schon 1928 von Dekker geäußert (17). Weitere Untersuchungen folgten, als Voorhorst im Jahre 1964 mitteilte, daß das Hauptallergen im Hausstaub von der Milbe *Dermatophagoides pteronyssinus* produziert wird (55). Der Untersuchung von Voorhorst schlossen sich zahlreiche wei-

tere Studien an, die die besondere Bedeutung der Milbe bestätigten (30, 33, 34, 37, 56). Als wichtige Allergene haben sich von den übrigen Bestandteilen des Hausstaubs vor allem menschliche Hautschuppen (49, 51) und Tierepithelien (29) erwiesen.

Die Wirkung der Allergene beruht darauf, daß sie bei disponierten Personen, den Atopikern, zur Bildung von Antikörpern der Immunglobulinklasse E (IgE) führen (28, 35). Die verschiedenen Immunglobulinklassen haben eine gemeinsame Grundstruktur: jedes Immunglobulinmolekül ist symmetrisch aus zwei identischen schweren Ketten und zwei identischen leichten Ketten aufgebaut. Die schweren Ketten sind Träger der klassenbestimmenden Eigenschaften (28, 35).

Eine wichtige biologische Eigenschaft des IgE ist seine Fähigkeit, sich an die spezifischen Rezeptoren von basophilen Granulocyten und Mastzellen der gleichen Spezies zu binden (26, 27). Nach Bindung von IgE-Antikörpern sind diese Zellen sensibilisiert. Kommt eine sensibilisierte Zelle mit dem korrespondierenden Allergen in Kontakt, führt die Interaktion von IgE-Antikörpern mit dem spezifischen Allergen über einen noch nicht völlig geklärten biochemischen Prozeß zur Freisetzung verschiedener Mediatoren (58). Wichtige Mediatorssubstanzen sind Histamin, "slow-reacting substance of anaphylaxis" (SRS-A) sowie ein chemotaktischer Faktor für Eosinophile (ECF-A), für Neutrophile (NCF) und Heparin (35).

Die Mediatoren bewirken eine Kontraktion der glatten Muskulatur, eine erhöhte Gefäßpermeabilität sowie eine ge-

steigerte Sekretion exokriner Drüsen und führen je nach Organlokalisation zu den unterschiedlichen Erscheinungsformen der allergischen Reaktionen vom Soforttyp (28, 59).

An der Haut wird durch Histamin und die anderen Mediatoren die sogenannte "urtikarielle Sofortreaktion", d.h. eine Bildung von Quaddel und Erythem hervorgerufen, die innerhalb von fünfzehn bis zwanzig Minuten ein Maximum erreicht und oft erst nach Stunden abklingt. Diese über das IgE vermittelte Hautreaktion kann bei sensibilisierten Menschen durch kutane Applikation des spezifischen Allergens ausgelöst werden. Diese Allergentestung an der Haut unter Verwendung von Allergenextrakten bildet auch heute noch zusammen mit einer ausführlichen Anamnese das Fundament der Allergiediagnostik (28, 59).

Von den verschiedenen Methoden der Hauttestung werden für die Gruppe der Inhalationsallergene der Pricktest und der Intrakutantest am häufigsten durchgeführt. Der Vorteil des Pricktestes besteht in seinem geringen Risiko, eine allergische Allgemeinreaktion auszulösen und in seiner schnellen, technisch einfachen Durchführung (23, 25, 40). Er ist aussagekräftiger als der Intrakutantest (28, 40), was sich darin zeigt, daß eine bessere Übereinstimmung mit der Anamnese, den Provokationsproben und dem Radio-Allergosorbent-Test (RAST) besteht (25, 32, 36, 38, 44, 46, 47). Der Pricktest ist weniger empfindlich als der Intrakutantest. Die geringere Empfindlichkeit kann bei niedrigem Sensibilisierungsgrad zu falsch negativen Ergebnissen führen (28, 59).

Die größere Empfindlichkeit des Intrakutantestes ist in

höherem Maße mit Allgemeinreaktionen belastet (28, 59). Es kommt häufiger als beim Pricktest zu unspezifischen Reaktionen durch die stärkere Gewebetraumatisierung und die in den Testsubstanzen teilweise enthaltenen Irritantien treten stärker in Erscheinung. Bei guter Beherrschung der Technik können jedoch mit beiden Methoden Ergebnisse hoher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit erreicht werden (9, 10, 19, 25, 48, 53).

Neben der angewendeten Methode werden Hauttestreaktionen noch von anderen Faktoren beeinflusst wie z. B. der Art des Allergens, dem Applikationsort und dem Zustand der Haut (42). Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt in hohem Maße vom Allergengehalt und dem Reinheitsgrad der verwendeten Allergenlösungen ab (3, 14, 24, 42, 43). Die zur Hauttestung verwendeten Allergenextrakte sind größtenteils unfraktionierte Rohextrakte, die zum Teil aus undefiniertem Ausgangsmaterial hergestellt sind und die sämtliche extrahierbare Komponenten des Rohmaterials in unbekannter Konzentration enthalten (3).

Die Stärke der Allergenextrakte wird von den Herstellern unterschiedlich, meist durch das Verhältnis Gewicht zu Volumen (w/v) und in Protein-Nitrogen-Einheiten (PNU) angegeben. Bei der Standardisierung nach Gewicht und Volumen wird die Menge des allergenen Ausgangsmaterials zum Volumen der Extraktionsflüssigkeit ins Verhältnis gesetzt. Wie Untersuchungen gezeigt haben, ist der Allergengehalt des Ausgangsmaterials Hausstaub keineswegs konstant (50). Er schwankt je nach Jahreszeit und ist insbesondere abhängig von klimatischen und landschaftlichen Einflüssen. Dies zeigt, daß trotz gleicher Gewichts/

Volumenverhältnisse erhebliche Unterschiede im Allergengehalt bestehen können. Die Angabe w/v ist daher nicht aussagekräftig. Die Protein-Nitrogen-Einheit entspricht einer Menge von $0,01 \mu\text{g}$ Protein-Stickstoff. Es ist heute bekannt, daß der größte Teil der Proteine in Allergenextrakten keine allergene Aktivität besitzt (3). Die Einheit gibt daher hauptsächlich den Gehalt an allergen inaktiven Proteinen an; sie ist deshalb als Maß für den Allergengehalt sinnlos. Diese von den Herstellern angegebenen Konzentrationsmaße erweisen sich somit als irrelevant, da sie nichts über die allergene Aktivität der Extrakte aussagen (3, 8, 20, 21, 60).

Demgegenüber ist es möglich, die allergene Aktivität der Extrakte mit Hilfe des Hautpricktestes zu bestimmen (2, 4, 48). Der Pricktest wird dazu gleichzeitig mit dem Allergenextrakt und einer Referenzlösung (Histamin), die eine Reaktion gleicher Art ergibt, durchgeführt. Dann werden die durch die beiden Lösungen hervorgerufenen Hautreaktionen verglichen. Derjenige Extrakt, der im Pricktest eine Hautreaktion von demselben Umfang hervorruft wie die Histaminlösung (1mg/ml) hat die allergene Aktivität von einem Histamin-Equivalent-Prick (HEP). Die Testpopulation soll dabei mindestens fünfzehn bis zwanzig allergische Personen mit durchschnittlichem Reaktions- und Sensibilisierungsgrad umfassen (1, 4, 6). Dieses Vorgehen, das auf dem Vorschlag der Skandinavischen Gesellschaft für Allergologie beruht (5, 6), ist zur biologischen Standardisierung von Allergenextrakten geeignet.

2. Gegenstand der Arbeit

Gegenstand der Arbeit ist die Untersuchung der Immunität von Pricktestlösungen verschiedener Hersteller, die für die Diagnose von Hausstauballergien verwendet werden.

Sie besteht aus zwei Untersuchungsschritten:

Es soll untersucht werden, ob die Anwendung von Pricktestlösungen verschiedener Hersteller zu unterschiedlichen Hauttestergebnissen führt.

Es soll die biologische Aktivität (Allergenaktivität) der verschiedenen Pricktestlösungen mit dem Histamin-Äquivalent-Pricktest festgestellt werden.

3. Material und Methoden

3.1 Probanden

An der Untersuchung beteiligten sich 54 Personen. Darunter waren 27 Allergiker und 27 Nichtallergiker. Die Allergiker wurden anhand der Krankengeschichten der Poliklinik des Klinikums Steglitz ermittelt. Als Kriterium für die Auswahl der Patienten diente eine durch Anamnese und Hauttest festgestellte Hausstauballergie. Diese Gruppe setzte sich aus 13 Männern und 14 Frauen zusammen. Das Durchschnittsalter betrug 33,8 Jahre. Zum Zeitpunkt der Untersuchung nahm keiner der Patienten Corticosteroide oder Antihistaminika. Sie hatten sich auch keiner Hypo-sensibilisierung unterzogen.

Die Kontrollgruppe bestand aus Personen ohne anamnestisch erkennbare Allergie. Darunter waren 12 Männer und 15 Frauen. Das Durchschnittsalter betrug 28,4 Jahre.

3.2 Testlösungen

Die Hausstaub-Pricktestlösungen sind handelsübliche Präparate von vier verschiedenen Firmen; sie sind im folgenden als A, B, C und D bezeichnet.

Als negative Kontrolllösung wurde physiologische Kochsalzlösung verwendet.

Als positive Referenzlösung diente Histamin HCl (1 mg/ml).

3.3 Pricktest

Es wurde der modifizierte Pricktest (59) mit den Testlösungen A, B, C und D sowie der Kontrolllösung und der Histaminlösung gleichzeitig durchgeführt.

Beim Pricktest wird die Testlösung durch einen oberflächlichen Einstich in die Haut appliziert. Die Haut wird dabei in senkrechter (einfacher Pricktest) oder in seitlicher Richtung (modifizierter Pricktest) angestochen. Beim modifizierten Pricktest wird die flach angestochene Haut etwas angehoben. Bei dieser Technik dringt eine größere Menge der Testlösung in die Haut ein.

Mit der negativen Kontrolllösung wird festgestellt, ob eine gesteigerte Reizbarkeit der Haut besteht, die zur

unspezifischen Quaddelbildung führen kann. Mit der Histaminlösung wird die Reaktionsfähigkeit der Haut geprüft.

Die zur Testung vorgesehene Hautpartie (Volarseite des rechten Unterarms) wurde mit Alkohol gereinigt. Nach einer Wartezeit von zwei bis drei Minuten, die zum Ausgleich der durch die Reinigung bewirkten Durchblutungsänderung notwendig ist, wurde je ein Tropfen der vier Pricktestlösungen sowie der Histaminlösung und der negativen Kontrolllösung aufgetragen. Die Lösungen wurden in randomisierter Reihenfolge aufgetropft, da die Hautreakibilität am Unterarm nicht überall gleich ist (45). Um eine gegenseitige Beeinflussung der Reaktionen auszuschließen, wurde zwischen den Lösungen ein Abstand von vier Zentimetern eingehalten (53). Mit einer Einmal-Blutentnahme-Lanzette wurde die Haut durch den Tropfen hindurch oberflächlich angestochen, und zwar so, daß nennenswerte Blutungen vermieden wurden. Die Tropfen wurden nach 10 Minuten mit Tupfern abgewischt.

3.4 Auswertung der Testreaktionen

Die durch die Histaminlösung hervorgerufene Reaktion wurde nach zehn Minuten, die der Testlösungen nach fünfzehn Minuten abgelesen. Die Differenz der Ablesungszeiten ergibt sich aus den unterschiedlichen Reaktionszeiten, die zur Ausbildung einer maximalen Hautreaktion benötigt werden (52).

Die Größe der Quaddeln und der Erytheme wird am besten durch den mittleren Durchmesser charakterisiert (38).

Der mittlere Durchmesser (MD) berechnet sich aus den beiden senkrecht aufeinanderstehenden Durchmessern D_1 und D_2 nach der Formel:

$$MD = \frac{D_1 + D_2}{2}$$

Um die biologische Aktivität der Pricktestlösungen zu bestimmen, wurden die mittleren Durchmesser der Allergenquaddeln und der Histaminquaddeln ins Verhältnis gesetzt. Die Allergenaktivität (A) bestimmt sich nach der folgenden Formel in HEP-Einheiten:

$$A = \frac{MD_Q}{MD_H} \text{ HEP}$$

MD_Q = mittlerer Durchmesser der Allergenquaddel

MD_H = mittlerer Durchmesser der Histaminquaddel

3.5. Statistische Überprüfung

Die Unterschiede der Hautreaktionen, die durch die verschiedenen Testlösungen hervorgerufen wurden, wurden mit der Rangvarianzanalyse (Friedman-Test) und dem Wilcoxon-Wilcox-Test überprüft. Das sind statistische Testverfahren, die für mehrere abhängige Stichproben entwickelt worden sind und keine Normalverteilung voraussetzen (41).

4. Ergebnisse

Von den 27 getesteten Allergikern zeigten 22 Personen eine positive Hautreaktion (Quaddel und Erythem). Allein diese Personen wurden bei der weiteren Auswertung berücksichtigt.

Keiner der 27 getesteten nicht atopischen Personen zeigte positive Hautreaktionen.

In Tabelle 1 sind die mittleren Quaddeldurchmesser, die berechneten Mittelwerte ($\bar{x}$) sowie die Standardabweichungen (s) für die Testlösungen und die Histaminlösung wiedergegeben.

Es zeigt sich, daß die größten Quaddeln mit einem Mittelwert von 4,6 mm von der Testlösung C hervorgerufen wurden. Die Testlösung B führte zu den zweitgrößten Quaddeln mit einem Mittelwert von 3,6 mm. Die Testlösungen D und A bewirkten mit Werten von 2,7 mm bzw. 2,5 mm deutlich kleinere Quaddeln. Die Quaddelgröße nimmt in folgender Reihenfolge ab:

Testlösung C

Testlösung B

Testlösung D

Testlösung A

Aus den in Tabelle 2 dargestellten Ergebnissen geht hervor, daß sich für die Testlösungen die gleiche Rangfolge auch bei den Erythemen zeigt. Die Erytheme, hervorgerufen durch die Testlösung C, sind mit einem Mittelwert von 16,2 mm wiederum am größten. Die zweitgrößten Erytheme ruft die Testlösung B hervor; der Mittelwert beträgt hier 12,8 mm. Die Erytheme, hervorgerufen durch die Testlösungen D und A, zeigen auch hier mit den Mittelwerten von 8,7 mm und 8,2 mm den kleinsten Wert.

Tabelle 1: Mittlere Durchmesser, Rangfolgen, Mittelwerte und Standardabweichungen für die durch die Testlösungen A, B, C, D und das Histamin hervorgerufenen Quaddeln

Patient Lfd. Nr.	Q U A D D E L									
	Mittlere Durchmesser in mm					Rangfolge				
	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D	Hista- min	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D	
1	3	4	5	4	4	1	2,5	4	2,5	
2	2	5	6	3	5	1	3	4	2	
3	4	5	6	4	6	1,5	3	4	1,5	
4	3	5	5	4	5	1	3,5	3,5	2	
5	4	4	5	4	7	2	2	4	2	
6	4	4	6	3	4	2,5	2,5	4	1	
7	3	4	4	2	4	2	3,5	3,5	1	
8	3	3	7	3	5	2	1,5	4	2	
9	2	2	4	3	4	1,5	1,5	4	3	
10	2	4	5	3	5	1	3	4	2	
11	2	3	3	1	4	2	3,5	3,5	1	
12	5	4	8	3	6	3	2	4	1	
13	2	3	4	3	5	1	2	3,5	3,5	
14	3	3	3	2	5	3	3	3	1	
15	-	2	2	-	4	1,5	3,5	3,5	1,5	
16	2	3	4	1	4	2	3	4	1	
17	2	4	4	3	4	1	3,5	3,5	2	
18	1	3	3	2	4	1	3,5	3,5	2	
19	2	5	6	3	4	1	3	4	2	
20	2	3	3	2	4	1,5	3,5	3,5	1,5	
21	2	3	3	3	6	1	3	3	3	
22	2	3	5	3	5	1	2,5	4	2,5	
$\sum$	55	79	101	60	104	34,5	62,5	82	41	
$\bar{x}$	2,5	3,6	4,6	2,7	4,7					
$\pm s$	1,05	0,9	1,5	0,9	0,9					

Tabelle 2: Mittlere Durchmesser, Rangfolgen, Mittelwerte und Standardabweichungen für die durch die Testlösungen A, B, C, D und das Histanin hervorgerufenen Erytheme

E R Y T H E M E													
Patient Lfd. Nr.	Mittlere Durchmesser in mm						Rangfolge						
	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D	Hista- min	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D
1	5	20	25	10	15	1	3	4	2				
2	5	7	9	5	15	1,5	3	4	1,5				
3	6	7	20	6	15	1,5	3	4	1,5				
4	14	17	17	18	20	1	2,5	2,5	4				
5	10	6	10	6	15	3,5	1,5	3,5	1,5				
6	15	18	19	13	12	2	3	4	1				
7	6	8	10	5	9	2	3	4	1				
8	22	20	33	16	20	3	2	4	1				
9	15	17	20	23	20	1	2	3	4				
10	3	20	20	5	20	1	3,5	3,5	2				
11	10	15	15	-	22	2	3,5	3,5	1				
12	7	6	15	4	30	3	2	4	1				
13	5	4	10	10	10	2	1	3,5	3,5				
14	4	4	3	2	17	3,5	3,5	2	1				
15	-	4	4	-	19	3,5	3,5	3,5	3,5				
16	12	10	20	-	20	3	2	4	1				
17	4	17	17	12	16	1	3,5	3,5	2				
18	-	25	20	17	12	1	4	3	2				
19	15	25	25	15	20	1,5	3,5	3,5	1,5				
20	18	25	30	17	22	2	3	4	1				
21	3	4	4	4	18	1	3	3	3				
22	2	3	10	3	9	1	2,5	4	2,5				
Σ	181	282	356	191	376	40	61,5	78	40,5				
$\bar{x}$	8,2	12,8	16,2	8,7	17,1								
$\pm s$	5,6	7,4	8,1	5,9	5,0								

Wie in Tabelle 1 und 2 dargestellt, ist die Variationsbreite der Abweichungen vom Mittelwert für die Testlösungen und das Histamin bei den Quaddeln deutlich geringer als bei den Erythemen. Schwankt die Standardabweichung der Quaddeln zwischen 0,9 mm und 1,5 mm, so liegt die entsprechende Schwankungsbreite bei den Erythemen zwischen 5,0 mm und 8,1 mm.

4.1 Signifikanz der Unterschiede

Mit Hilfe des Friedman-Tests als Homogenitätstest, läßt sich die Signifikanz der Unterschiede bei den Quaddeln und Erythemen bestimmen. Im folgenden sind die Ergebnisse für die Quaddeln wiedergegeben.

Für den Fall, daß die Testlösungen einen systematischen Einfluß auf die Größe der Quaddeln aufweisen, werden sich die Rangsummen signifikant unterscheiden, die sich aus den jeweils erzielten Rangplätzen der vier Testlösungen bei den Allergikern ergeben. Die Signifikanz der Unterschiede läßt sich mit der von Friedman angegebenen Prüfgröße ${}^1\chi^2_R$ bestimmen. Sie berechnet sich nach der Formel:

$${}^1\chi^2 = \left[\frac{12}{nk(k+1)} \sum_{i=1}^k R_i^2 \right] - 3n(k+1)$$

n = Anzahl der Allergiker

k = Anzahl der Testlösungen

$\sum_{i=1}^k R_i^2$ = Summe der Quadrate der Spaltenrangsummen für die
k zu vergleichenden Bedingungen

Die Prüfstatistik ${}^1\chi_R^2$ ist für nicht zu kleine Stichproben ($k = 4$, $n = 10$) wie χ^2 für $k - 1$ Freiheitsgrade verteilt. Sie kann daher nach der χ^2 Tafel beurteilt werden.

Kontrolle der Spaltenrangsummen:

$$\sum_{i=1}^k R_i = \frac{nk(k+1)}{2} = \frac{22 \times 4 (4 + 1)}{2} = 220$$

Es ergibt sich:

$$\begin{aligned} {}^1\chi_R^2 &= \frac{12}{22 \times 4 (4 + 1)} (34,5^2 + 62,5^2 + 82^2 + 41^2) \\ &\quad - 3 \times 22 (4 + 1) \\ &= 76,4 \end{aligned}$$

Nach der χ^2 Tabelle entspricht der ermittelte Wert 76,4 für $k - 1 = 3$ Freiheitsgrade einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$. Die Rangsummen unterscheiden sich daher signifikant (0,1% Niveau). Die unterschiedlichen Quadrate der Testlösungen sind nicht zufällig.

Genauere Aussagen über die Unterschiede der Quaddelgrößen lassen sich mit dem Wilcoxon-Wilcox-Test machen, der gegenüber dem Friedman-Test einen multiplen Vergleich ermöglicht. Dazu sind die absoluten Differenzen der Rangsummen der Testlösungen zu bilden. Die berechneten Werte sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Nach Wilcoxon-Wilcox beträgt die kritische Differenz für $k = 4$ und $n = 22$ auf dem 10% Niveau 19,6, auf dem 5% Niveau 22,0 und auf dem 1% Niveau 26,7.

Tabelle 3 zeigt, daß die Testlösung C sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ von den Testlösungen D und A unterscheidet. Ein signifikanter Unterschied zur Testlösung B besteht nicht. Die Testlösung B unterscheidet sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,1$ von der Testlösung D und mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ von der Testlösung A. Zwischen den Testlösungen D und A besteht kein signifikanter Unterschied.

Im folgenden soll geprüft werden, welche Unterschiede bei den Erythemgrößen der einzelnen Testlösungen bestehen.

Kontrolle der Spaltenrangsummen:

$$\sum_{i=1}^k R_i = \frac{nk(k+1)}{2} = \frac{22 \times 4 (4+1)}{2} = 220$$

Tabelle 3: Multipler Vergleich der Testlösungen A, B, C und D mittels der Rangsummen ihrer Quaddelgrößen

Rangsummen	Lösung B	Lösung D	Lösung A
	62,5	41	34,5
Lösung C			
82	19,5	41 ⁺⁺	47,5 ⁺⁺
Lösung B			
62,5		21,5 ⁺	28 ⁺⁺
Lösung D			
42			6,5

⁺ = signifikante Unterschiede auf dem 10% Niveau

⁺⁺ = signifikante Unterschiede auf dem 1% Niveau

Tabelle 4: Multipler Vergleich der Testlösungen A, B, C und D mittels der Rangsummen ihrer Erythemgrößen

Rangsummen	Lösung B	Lösung D	Lösung A
	61,5	40,5	40
Lösung C			
78	16,5	37,5 ⁺⁺	38 ⁺⁺
Lösung B			
61,5		21 ⁺	21,5 ⁺⁺
Lösung D			
40,5			0,5

⁺ = signifikante Unterschiede auf dem 10% Niveau

⁺⁺ = signifikante Unterschiede auf dem 1% Niveau

Es ergibt sich:

$$\chi_R^2 = \frac{12}{22 \times 4 (4 + 1)} (40^2 + 61,5^2 + 78^2 + 40,5^2) - 3 \times 22 (4 + 1) = 54,9$$

Nach der χ^2 Tabelle entspricht der Wert 54,9 für $k - 1 = 3$ Freiheitsgrade einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$. Die Erythemgrößen unterscheiden sich ebenfalls signifikant.

Die Ergebnisse des multiplen Vergleichs nach Wilcoxon-Wilcox sind in Tabelle 4 dargestellt. Es zeigt sich, daß die Testlösung C sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ von den Testlösungen D und A unterscheidet. Ein signifikanter Unterschied zur Testlösung B besteht nicht. Die Testlösung B unterscheidet sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,1$ von den Testlösungen A und D.

4.2 Bestimmung der biologischen Aktivität in HEP-Einheiten

In der folgenden Tabelle 5 sind die berechneten HEP-Einheiten der vier Testlösungen dargestellt. Sie ergeben

sich aus den Quotienten der jeweiligen Allergen- und Histaminquaddeln.

Tabelle 5: HEP-Einheiten Für die Testlösungen A, B, C und D

Patient Lfd. Nr.	Lösung A	Lösung B	Lösung C	Lösung D
1	0,75	1,0	1,25	1,0
2	0,4	1,0	1,2	0,6
3	0,67	0,83	1,0	0,67
4	0,6	1,0	1,0	0,8
5	0,57	0,57	0,71	0,67
6	1,0	1,0	1,5	0,75
7	0,75	1,0	1,0	0,5
8	0,6	0,6	1,4	0,6
9	0,5	0,5	1,0	0,75
10	0,4	0,8	1,0	0,6
11	0,5	0,75	0,75	0,25
12	0,83	0,66	1,3	0,5
13	0,4	0,6	0,8	0,8
14	0,6	0,6	0,6	0,4
15	0,0	0,5	0,5	0,0
16	0,5	0,75	1,0	0,25
17	0,5	1,0	1,0	0,75
18	0,25	0,75	0,75	0,5
19	0,5	1,25	1,5	0,75
20	0,5	0,75	0,75	0,5
21	0,33	0,5	0,5	0,5
22	0,4	0,6	1,0	0,6
$\bar{x}$	0,53	0,77	0,98	0,57

Es zeigt sich, daß der Wert der Testlösung C sich mit 0,98 HEP am stärksten dem Normwert 1 annähert. Der Wert für die Testlösung B beträgt 0,77 HEP. Testlösungen D und A besitzen mit 0,57 HEP bzw. mit 0,53 HEP eine deutlich geringere biologische Aktivität.

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Testlösung C ruft die größten Quaddeln und Erytheme hervor

Die Variationsbreite der Abweichungen vom Mittelwert der jeweiligen Quaddeln bzw. der Erytheme ist bei den Quaddeln wesentlich geringer als bei den Erythemen.

Die mittleren Durchmesser der Quaddeln und der Erytheme, die durch die Testlösungen hervorgerufen wurden, unterscheiden sich signifikant.

Die Werte der Testlösung C unterscheiden sich signifikant von denen der Testlösung D und A. Ein signifikanter Unterschied zur Testlösung B besteht nicht.

Der HEP-Wert der Testlösung C entspricht am besten dem von der Skandinavischen Gesellschaft für Allergologie geforderten Normwert.

5. Diskussion

Es wurde gezeigt, daß Hautpricktests, durchgeführt mit vier Hausstaub-Pricktestlösungen verschiedener Hersteller zu signifikant unterschiedlichen Reaktionsstärken, ausgedrückt in mittleren Quaddel- und Erythemdurchmessern, führen.

Wie in verschiedenen Studien nachgewiesen wurde, besteht zwischen Quaddelgröße und Allergenkonzentration der Testlösung eine hohe Korrelation (9, 10, 23, 54). Das bedeutet, daß Pricktestlösungen mit ungleicher Allergenkonzentration zu unterschiedlichen Quaddelgrößen führen müssen. Es ist daher anzunehmen, daß der in dieser Untersuchung nachgewiesene systematische Einfluß der vier Testlösungen auf die Reaktionsstärke durch ihre differenten Allergenmengen zu erklären ist. Solche Unterschiede im Allergenanteil gleichartiger Extrakte verschiedener Provenienz stellten andere Autoren mittels Radioallergosorbent-Test fest (18, 20, 21, 38).

Wie in der Einleitung dargestellt, lassen die von den Herstellern angegebenen Konzentrationsstärken (Gewicht/Volumen bzw. Protein-Nitrogen-Einheiten) keine Schlußfolgerungen auf die biologische Aktivität der Allergenextrakte zu (8, 20, 21, 60). Diese Aussage wurde auch durch unsere Untersuchung bestätigt.

Wie die Ergebnisse zeigen, besitzt nur die Testlösung C, die von der Skandinavischen Gesellschaft für Allergologie geforderte allergene Aktivität von 1 HEP-Einheit. Die Testlösung B erreicht mit 0,71 HEP eine mittlere

Position, während die Testlösungen D und A mit 0,57 HEP bzw. 0,53 HEP nur eine etwa halb so große Aktivität aufweisen. Das bedeutet, daß die Allergenkonzentration der Lösungen D und A zu gering ist und daher die Gefahr besteht, daß bei deren Anwendung in einem hohen Prozentsatz eine aktuelle Hausstaubsensibilisierung übersehen werden kann.

Aas hat vorgeschlagen, daß eine Hautreaktion nur dann als positiv gewertet werden soll, wenn die durch die Testlösung hervorgerufene Quaddel mindestens halb so groß ist wie die Referenzhistaminguaddel (4). Dieser Standard wird bei den Testlösungen C und B in allen Fällen, bei Testlösung D in 18 von 22 Fällen (82%) und bei Testlösung A in 15 von 22 Fällen (65%) erreicht. Auch das bestätigt, daß zu schwach konzentrierte Lösungen zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Es ist beschrieben worden, daß Allergenextrakte irritierende Substanzen enthalten, die über unspezifische Histaminfreisetzung zu falsch positiven Ergebnissen führen (1, 2, 3). Da bei der Kontrollgruppe (Nichtallergiker) keine unspezifischen Hautreaktionen beobachtet wurden, läßt sich diese Aussage nicht bestätigen.

Um durch Hauttestungen feststellen zu können, gegen welche Allergene ein Patient allergisch reagiert und in welchem Grade, ist es notwendig, daß die Bestandteile der Testlösungen sowohl quantitativ als auch qualitativ bestimmt sind. In dieser Untersuchung wurden die Hausstaub-Pricktestlösungen lediglich hinsichtlich ihrer Gesamtaktivität in einem relevanten biologischen System

verglichen. Über die vorhandenen qualitativen Unterschiede kann mit der hier angewandten Methode nichts ausgesagt werden. Dazu sind immunochemische Verfahren notwendig, wie die Kreuzimmunoelktrophorese und die Kreuz-Radio-Immunoelktrophorese.

6. Zusammenfassung und Schlußfolgerung

In der Untersuchung wurden vier Pricktestlösungen verschiedener Hersteller, die für die Diagnose von Hausstauballergien Verwendung finden, mittels des modifizierten Pricktests verglichen. Der Hautpricktest wurde bei allen Probanden simultan mit den Testlösungen und der Kontrollösung durchgeführt.

Es wurden 27 Allergiker getestet, bei denen durch Anamnese und Hauttest eine Hausstauballergie festgestellt worden war. Die Kontrollgruppe bestand aus 27 nicht-allergischen Personen.

Von den 27 Allergikern zeigten 22 Personen eine positive Hautreaktion. Alle Personen der Kontrollgruppe reagierten negativ.

Die Reaktionsstärke, ausgedrückt in mittleren Quaddel- und Erythemdurchmessern, nahm in folgender Reihenfolge ab: Testlösung C, B, D und A.

Die Unterschiede der Hautreaktionen wurden mit der Rangvarianzanalyse (Friedman-Test) und der multiplen Rangvarianzanalyse (Wilcoxon-Wilcox-Test) überprüft. Es zeig-

te sich, daß die Quaddel- und Erythemgrößen, hervorgerufen durch Testlösung C, sich signifikant von denen der Testlösungen D und A unterscheiden. Ein signifikanter Unterschied zu denen der Testlösung B besteht nicht.

Die biologische Aktivität wurde mittels Histamin-Äquivalent-Pricktest bestimmt und in HEP-Einheiten ausgedrückt. Nur die Testlösung C entsprach mit einem Wert von 0,98 HEP dem von der Skandinavischen Gesellschaft für Allergologie geforderten Normwert von 1 HEP.

Damit bestätigen sich die Ergebnisse anderer Untersuchungen, die erhebliche Unterschiede in der Allergenaktivität von gleichartigen Extrakten verschiedener Hersteller festgestellt haben.

Die Stärke von Allergenextrakten sollte einheitlich in biologischen Einheiten angegeben werden, die auf Hauttestresultaten basieren, um dem in der Allergiediagnostik tätigen Arzt Orientierungsdaten über die wirksamen Bestandteile der von ihm verwendeten Testlösungen zu geben.

Literatur

1. AAS, K.:
Standardization of allergen extracts.
Develop. Biol. Standard. 29 (1975) 341
2. AAS, K.:
Clinical and experimental aspects of standardization
and purification of allergen.
Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 49 (1975) 44
3. AAS, K.:
Allergen-Extrakte - Allgemeine Betrachtungen.
in: Aas, K., H. D. Brede (Hrsg.)
Allergenextrakte, Fischer, Stuttgart 1979
4. AAS, K., A. BACKMAN, L. BELIN, B. WEEKE:
Standardization of allergen extracts with appropriate
methods. The combined use of skin prick testing
and radio-allergosorbent tests.
Allergy 33 (1978) 130
5. AAS, K., L. BELIN:
Standardization of diagnostic work in allergy.
Acta Allergol. 27 (1972) 439
6. AAS, K., L. BELIN:
Suggestions for biologic qualitative testing and
standardization of allergen extracts.
Acta Allergol. 29 (1974) 238

7. AAS, K., I. LEEGAARD, L. AUKRUST, H. GRIMMER:
Immediate type hypersensitivity to common moulds.
Allergy 35 (1980) 443
8. BAER, H., C.J. MALONEY, P. NORMAN, D.G. MARSH:
The potency and group I antigen content of six
commercially prepared grass pollen extracts.
J. Allergy Clin. Immunol. 54 (1974) 157
9. BECKER, E.L., B.Z. RAPPAPORT:
Quantitative studies in skin testing. II. The form
of the dose-response curve utilizing a quantitative
response.
J. Allergy 19 (1948) 317
10. BELIN, L.:
Immunological analyses of birch pollen antigens,
with special reference to the allergenic components.
Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 46 (1972) 300
11. BERRENS, L., J.H. MORRIS, R. VERSIE:
The complexity of house dust, with special reference
to the presence of human dandruff allergen.
Int. Arch. Allergy 29 (1966) 575
12. BERRENS, L., E. YOUNG:
Purification and properties of house dust allergen.
Int. Arch. Allergy 19 (1961) 341
13. BRIGHTON, W.D., M.D. TOPPING:
Human dander in house dust allergy.
Clin. Allergy 7 (1977) 577

14. CHIPPS, B.E., R.C. TALAMO, E.D. MELLITIS,
M.D. VALENTINE:
Immediate (IgE-mediated) skin testing in the
diagnosis of allergic disease.
Ann. Allergy 41 (1978) 211
15. COOKE, R.A.:
Studies in specific hypersensitivity. IV. New
etiological factors in bronchial asthma.
J. Immunology 7 (1922) 147
16. DAVIES, R.R.:
Molds in dust.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 13 (1958) 378
17. DEKKER, H.:
Asthma und Milben.
Münch. Med. Wochenschr. 75 (1928) 515
18. FOUCARD, T., S.G.O. JOHANSSON, H. BENNICH, T. BERG:
In vitro estimation of allergens by a radioimmune
antiglobulin technique using human IgE antibodies.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 43 (1972) 360
19. FROSTAD, A.B., R.BOLLE, Ø GRIMMER, K. AAS:
A new well-characterized, purified allergen preparation
from timothy pollen. II. Allergenic in vivo and
in vitro properties.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 55 (1977) 35

20. GLEICH, G.J., J.B. LARSON, R.T. JONES, H.BAER:
Measurement of the potency of allergy extracts by
their inhibitory capacities in the radioallergo-
sorbent test.
J. Allergy Clin. Immunol. 53 (1974) 158
21. GLEICH, G.J., K.M. LEIFERMAN, R.T. JONES,
M.L. HOOTON, H. BAER:
Analysis of the potency of june grass pollen by
their inhibitory capacities in the radioallergo-
sorbent test.
J. Allergy Clin. Immunol. 58 (1976) 31
22. HALPIN, L.J., H.E. PRINCE:
Clinical studies with feather dust.
Ann. Allergy 21 (1963) 577
23. HAVNEN, J.:
Prick test and intracutaneous test. Variability
in histamine tests between different individuals
and in the same individual.
Acta Allergol. 29 (1974) 225
24. HENDRICK, D.J., R.J. DAVIES, M.F. D'SOUZA, J. PEPYS:
An analysis of skin prick test reactions in 656
asthmatic patients.
Thorax 30 (1975) 2
25. IMBER, E.W.:
Allergic skin testing: A clinical investigation.
J. Allergy Clin. Immunol. 60 (1977) 47

26. ISHIZAKA, K., T. ISHIZAKA, H. TOMIOKA:
Demonstration of passive sensitization of monkey
mastcells by IgE.
J. Allergy 47 (1971) 89
27. ISHIZAKA, K., H. TOMIOKA, T. ISHIZAKA:
Mechanisms of passive sensitization. I. Presence
of IgE and IgG molecules on human leukocytes.
J. Immunol. 105 (1970) 1459
28. JÄGER, L.:
Klinische Immunologie und Allergologie
Fischer, Stuttgart 1976
29. KALVERAM, K.I., C. KALVERAM, G. FORCK:
Hausstauballergie durch Tierepithelien.
Allergologie 1 (1982) 19
30. KAWAI, T., D.G. MARSH, L.M. LICHTENSTEIN,
P.S. NORMAN:
The allergens responsible for house dust allergy.
J. Allergy Clin. Immunol. 50 (1972) 117
31. KERN, R.A.:
Dust sensitization in bronchial asthma.
Med. Clin. N. America 5 (1921) 751
32. LEEGARD, I., A. ROTH:
RAST in the diagnosis of hypersensitivity to
horse allergens. A comparison with clinical
history and in vivo tests.
Clin. Allergy 7 (1977) 455

33. MAUNSELL, K., D.G. WRAITH, A.M. CUNNINGTON:
Mites and house dust allergy in bronchial asthma.
Lancet 1 (1968) 1267
34. MIYAMOTO, T., S. OSHIMA, K. MIZUNO, M. SASSA,
T. ISHIZAKA:
Cross antigenicity among six species of dust
mites and house dust antigens.
J. Allergy 44 (1969) 228
35. OPRÉE, W.:
Pathogenese atopischer Erkrankungen aus
immunologischer Sicht
Chemie, Weinheim 1979
36. PASCUAL, H.C., P.M. REDDY, H. NAGAYA:
Agreement between radioallergosorbent test and
skin test.
Ann. Allergy 39 (1977) 325
37. PEPYS, J., M. CHAN, F.E. HARGREAVE:
Mites and house dust allergy.
Lancet 15 (1968) 1270
38. PEPYS, J., O. TANGEN, F.T. PERKINS, H. TATE,
W.D. BRIGHTON:
Examination of cocksfoot pollen (*Dactylis glomerata*)
extracts by skin prick test in man, RAST-based
allergen assay and protein content.
Dev. Biol. Standard 29 (1975) 284

39. PETERSON, R.D.A., P.E. WICKLUND, R.A. GOOD:
Endotoxin activity of a house dust extract.
J. Allergy 35 (1964) 134
40. REDDY, P.M., H. NAGAYA, H.C. PASCUAL, S.K. LEE,
S. GIPTA, J.I. LAURIDSEN, D.C. JEROME:
Reappraisal of intracutaneous tests in the
diagnosis of reaginic allergy
J. Allergy Clin. Immunol. 61 (1978) 36
41. SACHS, L.:
Angewandte Statistik
Springer, Berlin 1978
42. SCHULZ, K.H.:
Diagnose
in: Aas, K., H.D. Brede (Hrsg.)
Allergenextrakte, Fischer, Stuttgart 1979
43. SHAPIRO, G.G., C.W. BIERMAN, C.T. FURAWAKA,
W.E. PIERSON:
Allergy skin testing : Science or quackery?
Pediatrics 59 (1977) 495
44. STENIUS, B.:
Skin and provocation tests with Dermatophagoides
pteronyssinus in allergic rhinitis. Comparison
of prick and intracutaneous skin test methods
and correlation with specific IgE.
Acta Allergol. 28 (1973) 81

45. SWAIN, H.H., E.L. BECKER:
Quantitative studies in skin testing. V. The whealing reactions of histamine and ragweed pollen extract.
J. Allergol. 23 (1952) 441
46. TURNER, K.I., G.A. STEWART, A.H. SHARP, D. CZARNY:
Standardization of allergen extracts by inhibition of RAST, skin test and chemical composition.
Clin. Allergy 10 (1980) 441
47. VANTO, T., M. VIANDER, A. KOIVIKKO:
Skin prick test in the diagnosis of dog dander allergy: a comparison of different extracts with clinical history, provocation tests and RAST.
Clin. Allergy 10 (1980) 121
48. VOORHORST, R.:
Standardization of allergens by an improved skin-testing technique.
Develop. Biol. Standard 29 (1975) 352
49. VOORHORST, R.:
The human dander atopy. II. Human dander, a complicating factor in the study of the relationship between house dust and dermatophagoides allergens.
Ann. Allergy 39 (1977) 339
50. VOORHORST, R.:
Die pathogenen Allergene im Hausstaub.
Therapiewoche 27 (1977) 4351

51. VOORHORST, R.:
The human dander atopy. I. The prototype of autoatopy.
Ann. Allergy 39 (1977) 205
52. VOORHORST, R.:
Perfection of skin test technique.
Allergy 35 (1980) 247
53. VOORHORST, R., H. van KRIEKEN:
Atopic skin test reevaluated. I. Perfection of
skin test technique.
Ann. Allergy 31 (1973) 137
54. VOORHORST, R., H. van KRIEKEN:
Atopic skin test reevaluated. II. Variability in
results of skin testing done in octuplicate.
Ann. Allergy 31 (1973) 195
55. VOORHORST, R., M.I. SPIEKSMA-BOEZEMAN, F.T. SPIEKSMA:
Is a mite (Dermatophagoides sp.) the producer of
the housedust allergen?
Allergie and Asthma 10 (1964) 329
56. VOORHORST, R., F.T. SPIEKSMA, H. VAREKAMP,
M.J. LEUPEN, A.W. LYKLEMA:
The house dust mite (Dermatophagoides pteronyssinus)
and the allergen it produces. Identity with the
house dust allergen.
J. Allergy 39 (1967) 325
57. WAGNER, H.C., F. RACKERMAN:
Crossed reactions due to household dust.
J. Allergy 8 (1937) 537

58. WECK de A. L.:
Allergische Reaktionen vom Soforttyp: Wechsel-
wirkungen zwischen Mediatoren und Zellen.
Schweiz. med. Wschr. 110 (1980) 175
59. WERNER, M., V. RUPPERT:
Praktische Allergiediagnostik
Thieme, Stuttgart 1979
60. YUNINGER, I.W., R.T. JONES, I. GLEICH:
Studies on Alternaria allergens.
J. Allergy Clin. Immunol. 58 (1976) 405

Danksagung

Für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. med. H. Michel.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. G. Fuchs möchte ich meinen Dank für die Beratung in statistischen Fragen aussprechen.

Lebenslauf

Ich wurde am 28. Juni 1948 in Kaufbeuren geboren. Nach der Mittleren Reife absolvierte ich eine Ausbildung zur medizinisch-technischen Assistentin und war bis zum Jahre 1979 in diesem Beruf tätig. Das Abitur bestand ich im Juni 1976 am Berlin-Kolleg.

Im Wintersemester 1976/77 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin, daß ich nach 13 Semestern mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung beendete.

Im Juli 1983 wurde mir die Approbation als Ärztin erteilt.

12. 1. 84

